

## 小児滲出性中耳炎とウィルス感染

### 第1報 中耳貯留液の細胞診

山口 龍 二

札幌医科大学耳鼻咽喉科学講座 (主任 形浦昭克 教授)

## Virus Infection and Otitis Media with Effusion

### I. Cytological Study of Middle Ear Fluids

Tatsuji YAMAGUCHI

*Department of Otolaryngology, Sapporo Medical College*

*(Chief : Prof. A. Kataura)*

An attempt to evaluate whether virus infection is involved in the pathogenesis of otitis media with effusion in children was undertaken with cytological observation of their middle ear fluids, twenty-one being mucoid and two serous of twenty-three ears.

Despite the categorization of the fluids from chronic otitis media with effusions, the dominant type of inflammatory cell was neutrophil in all 23 ears. Multinucleated cells were observed in thirteen of 23 cases. These cells seemed to have arisen from epithelial cells of the middle ear mucosa. Therefore, it is suggested that some virus may be involved in the etiology of otitis media with effusion.

In ten cases of blue ear drum, numerous macrophages, lymphocytes and red blood cells were seen in their fluids. The condition of blue ear drum appeared to be based on a delayed-type hypersensitivity reaction. However, the role of virus infection in blue ear drum cases is unclear.

Therefore, further virus study of middle ear fluids from otitis media with effusions and the condition of blue ear drum should be carried out.

(Received January 8, 1982 and accepted January 18, 1982)

## 1 緒 言

滲出性中耳炎 Otitis media with effusion (鼓膜穿孔がなく、中耳腔に貯留液をもたらす中耳炎<sup>1-4)</sup>)は、小児の難聴の原因として、重要な疾患であるが<sup>5,6)</sup>その病因に関しては、まだ十分に明らかにされていない。

小児滲出性中耳炎の貯留液の細菌学的検索<sup>7-10)</sup>や免疫生化学的検索<sup>8,11-14)</sup>から、病因として細菌感染が重要視されてきている。一方、河本<sup>15)</sup>や Sipilä et al<sup>16)</sup>は、滲出性中耳炎における細菌の役割について、疑問視している。滲出性中耳炎の発症が感染によるものであることは確かであろうが、細菌感染のみによって発症するものかどうかは、まだ、不明である。

臨床上、滲出性中耳炎は、急性上気道感染症に罹患しやすい乳幼児に多く、しかも、この中耳炎の発症に際し、急性上気道炎の先行していることが多い<sup>5,6)</sup>また、

急性化膿性中耳炎から移行する例もあるが、明らかな上気道感染や急性化膿性中耳炎の既往を認めない例においても、軽度の耳痛や難聴を訴える例から発見されることがある。

これらの臨床的事実から、著者は、滲出性中耳炎の発症には、細菌感染のみならず、ウイルス感染が関与しているのではないかと考えるのである。

そこで、まず中耳貯留液中の炎症性細胞成分を明らかにし、ウイルス感染と結びつく所見が得られるかどうかを観察するため、中耳貯留液の細胞診を行った。

## 2 研究対象と方法

札幌医科大学附属病院耳鼻咽喉科外来にて、滲出性中耳炎と診断された患児(2-10歳)の中で、慢性例、すなわち、急性化膿性中耳炎の先行していた例では、発症後1カ月を経て中耳貯留液の存在するもの、および、

難聴を訴えて来院した例ではその難聴が2カ月以上にわたるものに、治療の目的で、鼓膜切開術を全身麻酔あるいはイオントフォレーゼ鼓膜麻酔下に行った。この際に、中耳貯留液をfluid collector (Juhn Tym-Tap, Xomed)を用いて吸引採取した。また、滲出性中耳炎の経過中に鼓膜の色調が暗紫青色を呈した青色鼓膜症例からも、同様の手技により、貯留液を得た。貯留液の採取時、鼓膜切開創からの出血がほとんどなく、肉眼的に貯留液に血液混入を認めなかった慢性滲出性中耳炎23耳および青色鼓膜10耳を観察対象とした。

採取した貯留液(おおむね0.2-0.8 ml)に、適量のリン酸緩衝食塩水(pH 7.35)を加え、ビベットで静かに攪拌した後、自動細胞収集装置(サクラ・オートスメアCF-12 SB)に装着した一対のセルに等量ずつ入れ、500 rpm、3分間の遠心分離後、細胞成分は、スライドグラス上に、7×4 mmのスポットとして回収された。得られたオートスメア標本の一つは、Papanicolaou染色を、他方は、May-Grünwald Giemsa染色を施し、オリンパスBH型顕微鏡を用いて、倍率400倍の視野下に、炎症性細胞ならびに上皮性細胞を観察し、3視野下における細胞数を算出し、1視野当りの細胞数により±:0-10個、+:10-30個、#:30-50個および卅:50-100個と分けた。

### 3 研究成績

観察対象とした慢性滲出性中耳炎23耳の貯留液の性状は、漿液性2耳および粘液性21耳であり、青色鼓膜例10耳は、いずれも肉眼的に暗褐色を呈し、漿粘液性であった。

慢性滲出性中耳炎例の中耳貯留液の細胞成分を分析した結果、炎症性細胞については、いずれの例も、好中球が主体を成し、リンパ球やマクロファージ(Mφ)などの単核球は比較的少なかった(Table 1, Fig. 1, 2)。上皮性細胞に注目すると繊毛上皮細胞や円柱上皮細胞が観察されたが、多くはこれらの変性像であった(Fig. 3)。

Table 1に示す如く、貯留液の性状は、漿液性のものはわずかに2耳であり、炎症性細胞成分分布に関して特別な差違は見いだせなかった。しかし、漿液性より粘液性貯留液において、各成分の細胞数は多く、ことに上皮性細胞が多かった。また、Fig. 4に示した多核巨細胞が23耳中13耳に、症例により異なるが1~数個認められた。この多核巨細胞の観察された症例のオートスメア標本をみると、その細胞周辺には、リンパ球やマクロファージなどの単核球が少なく、変性した種々

の上皮性細胞が多いことや、その多核巨細胞辺縁には繊毛を思わせる構造物が観察されたことから、この巨細胞は上皮由来と考えられた。

一方、青色鼓膜例では、貯留液採取時血液混入が認められなかったにも関わらず、赤血球が多数認められ、マクロファージやリンパ球などの単核球が非常に多く、好中球は少なかった。なかには、マクロファージの細胞質に、ヘモジデリンを貪食しているものが観察された(Fig. 5)。Fig. 6に示した多核細胞は炎症性細胞の態度から、異物型巨細胞と考えられ、10耳中9耳において認められた。上皮性細胞は、慢性滲出性中耳炎例よりも少なく、また、上皮性と思われる多核細胞は観察されなかった。

### 4 考 察

滲出性中耳炎という名称は、中耳貯留液が「滲出液」であるかのような誤解を与えるので、必ずしも適当ではないが、本邦では、河本<sup>15)</sup>の報告以来、その名称は、定着している。一方、欧米では、1975年および1979年の中耳炎に関する国際シンポジウムの報告<sup>3,4)</sup>により、Otitis media with effusionの名称が定着しつつある。本論文では、Otitis media with effusionの邦訳として「滲出性中耳炎」を用いた。また青色鼓膜は、滲出性中耳炎の経過中に鼓膜の色調が暗紫青色を呈するに至った症例を意味し、これは、慢性滲出性中耳炎とその病態が異なると考えられているので<sup>6,17)</sup> 本論文では、両者を区別して扱った。

滲出性中耳炎は、幼小児の難聴の原因として、その過半数を占めると言われ、また、臨床上、自覚症状の乏しいことから、発見されずに経過することが多い。さらに、適切な治療が行なわれずに経過した場合、癒着性中耳炎や鼓室硬化症へ移行するとも言われている<sup>9)</sup>。しかしながら、現実には、早期に発見され適切な治療が行われても、反復罹患し、難治となる例が少なくない。そのため、滲出性中耳炎の発症機序を明らかにし、それに基づいて、最も有効な治療方法の確立が必要とされている。幼小児の上気道感染の多くはウイルスによるものであり、滲出性中耳炎患者児が上気道感染に罹患しやすく、また滲出性中耳炎が反復することから、著者は、滲出性中耳炎の発症にウイルスが重要な役割を担っている可能性を推察した。

そこで、今回、中耳貯留液中の細胞成分を分析し、ウイルス感染と関連する所見が得られるかどうか、検索したのである。

中耳貯留液の細胞成分については、Senturia,<sup>2)</sup>

**Table 1.** *Cytology of middle ear fluids in 23 cases of chronic otitis media with effusions.*

Case	Category	Neutrophil	Lymphocyte	Monocyte, Mφ	RBC	Epithel.
1.	serous	++	+	±	+	+
2.	serous	+	+	±	+	++
3.	mucoid	+++	+	+	+	+++*
4.	mucoid	++	+	+	+	+
5.	mucoid	++	+	+	+	+++*
6.	mucoid	+	±	±	+	+++*
7.	mucoid	+	±	±	+	+++*
8.	mucoid	++	±	±	+	+++*
9.	mucoid	++	±	±	+	+
10.	mucoid	+++	+	±	+	+++*
11.	mucoid	++	±	±	+	+
12.	mucoid	+++	++	±	+	±
13.	mucoid	+++	+	+	+	±
14.	mucoid	+++	+	+	+	±
15.	mucoid	++	+	±	+	±
16.	mucoid	+	+	±	+	+++*
17.	mucoid	+	±	±	±	+++*
18.	mucoid	+	±	±	±	++
19.	mucoid	++	±	±	±	+++*
20.	mucoid	+	±	±	+	+++*
21.	mucoid	++	±	±	++	++
22.	mucoid	++	±	±	±	+++*
23.	mucoid	++	±	±	±	++

Grades of cell count under a field with a magnification of 400x.

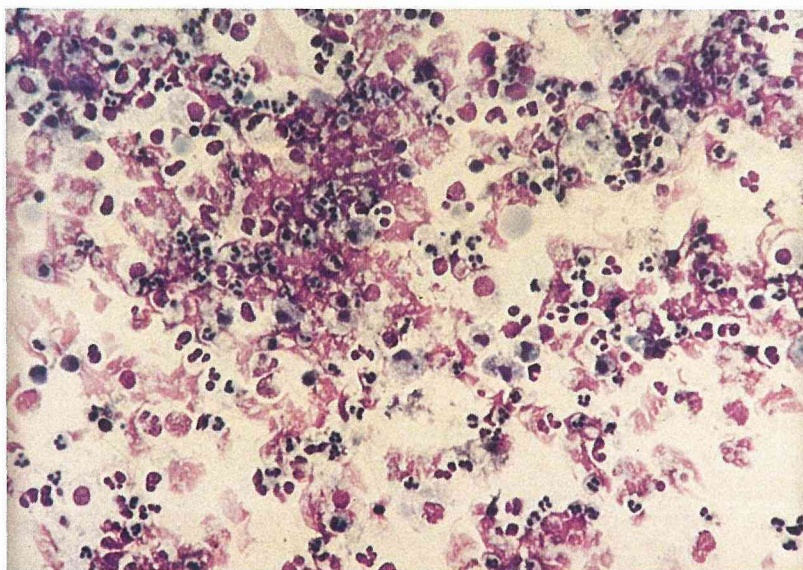
±: 0-10, +: 10-30, ++: 30-50, +++: 50-.

\*: positive multinucleated cells.

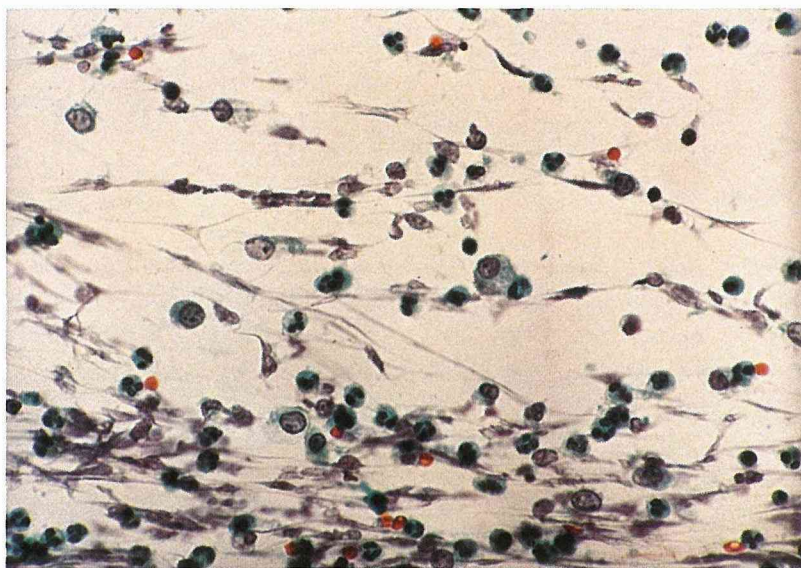
Senturia et al<sup>17)</sup>以来、いくつかの報告がみられる。<sup>18-25)</sup> Senturia は、貯留液の性状と細胞成分の分析から、滲出性中耳炎の分類を試みたにすぎない。Bryan and Bryan<sup>18)</sup>は、芽球化リンパ球とマクロファージに注目して、滲出性中耳炎の炎症反応は、遅延型過敏反応と考えた。しかし、炎症性細胞の成分については、明らかにしていない。Palva et al<sup>19)</sup>は、粘液性貯留液の炎症性細胞を観察し、好中球とともにリンパ球の多いことから、滲出性中耳炎が感染によるものと報告した。また、彼らは、上皮性細胞についても観察し、絨毛上皮細胞や杯細胞、さらに、扁平上皮細胞も認められたと報告している。その後の Palva and Holopainen<sup>20)</sup> Juhn et al<sup>21)</sup>や Palva et al<sup>22)</sup>の報告をみても、貯留液の性状と炎症性細胞との関係は明らかにされていない。Lewis et al<sup>23)</sup>は、彼らの対象 25 例全てが、好中球優位であっ

たとし、これは、著者の成績と一致するが、貯留液中の炎症性細胞の成分が、どのような感染によるものかは、明らかではない。そのような状況のもとで中耳貯留液の細菌学的検索と炎症性細胞との関係を調べたのが、Lim et al<sup>24)</sup>や Palva et al<sup>25)</sup>である。まず、Lim et al<sup>24)</sup>は、貯留液からの細菌検出陽性例では好中球の多い傾向にあり、検出陰性例ではリンパ球が多かったと述べている。次に、Palva et al<sup>25)</sup>は、貯留液の性状と炎症性細胞成分の分布との間に、特別な関連性を見いだしておらず、漿液性と粘液性貯留液のいずれからでも、細菌が検出される例があることから、貯留液の性状や炎症性細胞の成分が症例により異なることの説明として、病期の違いを考えている。

しかし、これまでの報告には、問題が残されている。何故なら、著者の経験では、鼓膜切開創からの出血が



**Fig. 1** Serous effusion (May-Grünwald Giemsa stain  $\times 272$ ). Numerous neutrophils and lymphocytes with little mucous strand.

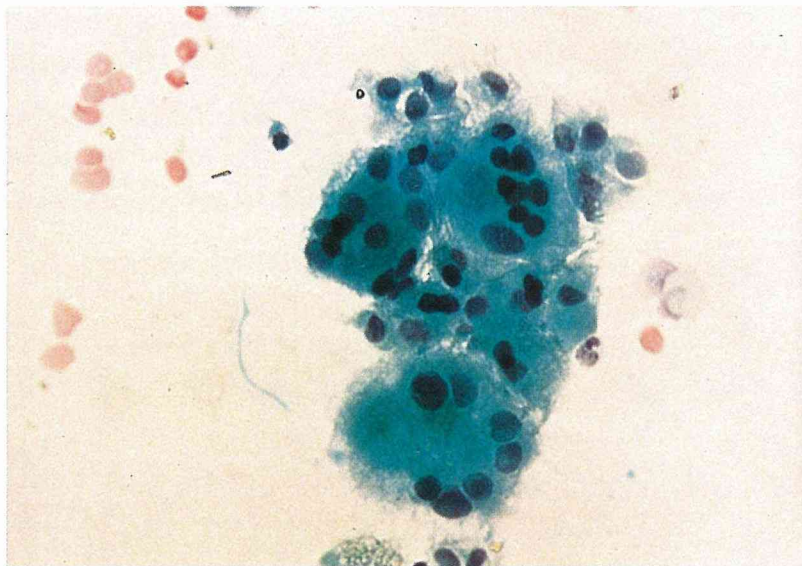


**Fig. 2** Mucoid effusion (Papanicolaou's stain  $\times 435$ ). Numerous neutrophils with mucous strand.

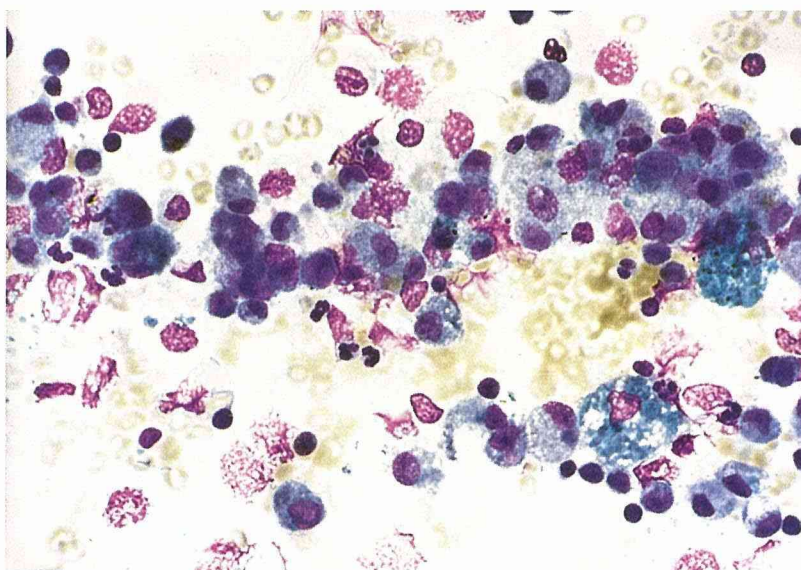




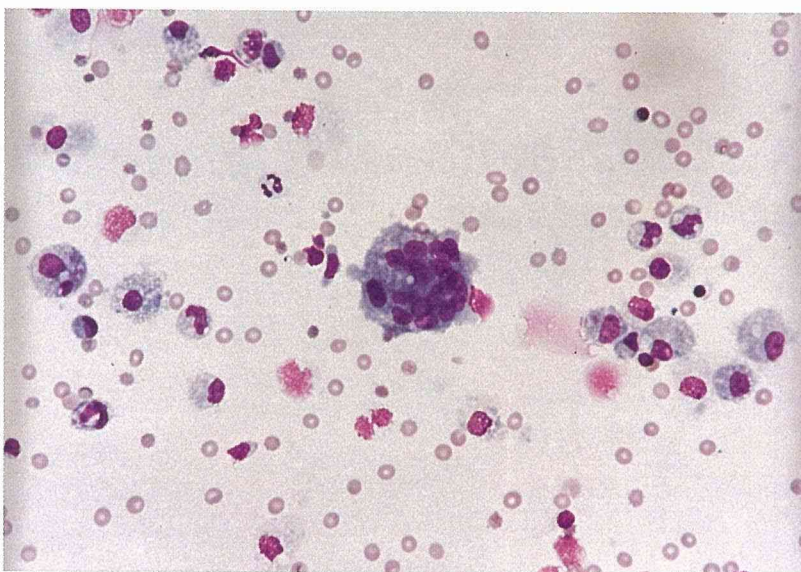
**Fig. 3** Mucoid effusion (Papanicolaou's stain  $\times 435$ ). Ciliated columnar cells.



**Fig. 4** Mucoid effusion (Papanicolaou's stain  $\times 435$ ). Multinucleated cells.



**Fig. 5** Effusion from blue ear drum (May-Grünwald Giemsa stain  $\times 435$ ). Numerous macrophages and lymphocytes.



**Fig. 6** Effusion from blue ear drum (May-Grünwald Giemsa stain  $\times 272$ ). A foreign body-type giant cell.

著明であると、採取した貯留液に血液が混入し、細胞成分は、中耳腔に貯留していたものとは、異なってくると思われるが、血液混入を回避した貯留液を対象としたかどうかについては、記載がなく不明である。少なくとも、著者の検索から慢性滲出性中耳炎の粘液性貯留液において好中球が多いことは、明らかであるが、漿液性においては、わずか2例しか観察しなかったもので、まだ検討の余地が残されている。加えて、急性例の炎症性細胞の成分についても明らかにする必要があるが、現実には、急性滲出性中耳炎例で鼓膜切開の適応となる症例は少なく、また、切開を行なっても、出血の著明なことが多いことから、急性例の中耳貯留液中の細胞成分を分析することは困難である。

慢性滲出性中耳炎例に限れば、炎症性細胞成分の分析から、ウィルス感染との関連は明らかではない。

さて、上皮性細胞については、これまで、Palva et al<sup>19)</sup>の記載があるのみで、著者が見いだした上皮由来と思われる多核細胞については、報告されていない。この多核細胞は、オートスメア標本の他の細胞構築をみると、上皮由来と考えられたのであるが、Lim et al<sup>24)</sup>の報告にある類上皮細胞と一致するものかもしれない。この多核細胞を上皮由来と考えると、これは、極めて重要な意味をもつ可能性があると思われる。すなわち、中耳腔粘膜上皮は、繊毛細胞や杯細胞から成る呼吸上皮であり、<sup>26,27)</sup>気道粘膜と同じ構造であることが明らかにされている。また、一般に、上皮性細胞が多核化するのは後述する実験事実からウィルス感染によるものと考えられている。すなわち気道ウィルスの分離に用いられる上皮由来の株化継代細胞(例えば、HEp-2細胞やKB細胞)に、気道ウィルスのある種のもの、例えば、Respiratory syncytial virusを接種すると、培養細胞が多核化することが知られており、<sup>28,29)</sup>また、Henderson et al<sup>30)</sup>の実験では、胎児気管の培養中にRespiratory syncytial virusを接種し、胎児気管粘膜上皮の細胞が多核化することを観察している。中耳腔にウィルス感染が起これば、中耳腔粘膜上皮細胞が多核化することは、容易に予想できる。

しかし、直観的にウィルス感染により多核巨細胞が出現すると判断するには、問題がある。このことについて、中耳貯留液よりウィルス分離を試み、その結果に基づいて考察されなければならないと思われる。

最後に、青色鼓膜例の中耳貯留液中に、マクロファージやリンパ球の多いことは、これまでに全く報告をみない。少なくとも、慢性滲出性中耳炎と病態が異なることは、炎症性細胞の態度から明らかである。こ

のマクロファージやリンパ球の多いことは、Bryan and Bryan<sup>18)</sup>の考察によれば、滲出性中耳炎から青色鼓膜へ移行するのは、遅延型過敏反応が関与しているためかもしれない。仁保<sup>17)</sup>のいうコレステロール中耳炎は、中耳腔にコレステリン肉芽腫が生じていることで特徴づけられているが、この病態は、著者が青色鼓膜例とした中に含まれていると考えられる。青色鼓膜例においてウィルス関与は全く不明であり、やはり、ウィルス分離を試みる必要がある。

## 5 結 語

小児滲出性中耳炎の発症に、ウィルス感染が関与している可能性を検討するため、中耳貯留液の細胞診をオートスメアを用いて行った。

慢性滲出性中耳炎23耳では、全例に、好中球主体の炎症性細胞が観察され、滲出性中耳炎の慢性期には、好中球が重要な役割を担っているかもしれない。しかし、ウィルス感染との関連は不明であった。上皮性細胞に注目すると、上皮由来と思われた多核細胞が23耳中13耳に認められ、ウィルス感染の関与している可能性が示唆された。

青色鼓膜例では、炎症性細胞の成分から、滲出性中耳炎とは異なる病態であることが明らかにされた。滲出性中耳炎から青色鼓膜への移行には、遅延型過敏反応が関与していることが示唆された。

今後、滲出性中耳炎とウィルス感染との関連を追究するために、中耳貯留液からウィルス分離を行う必要がある。

稿を終るに際し、本研究のご指導ならびにご校閲を賜った形浦昭克教授に深謝致します。また、細胞診に関し、ご助言を賜った札幌医科大学附属病院中央検査部病理部門 室谷光三助教授に深謝致します。

## 文 献

1. Hoople, G. D.: Otitis media with effusion—A challenge to otolaryngology. *Laryngoscope* **60**, 315-329 (1950).
2. Senturia, B. H.: Classification of middle ear effusions. *Ann. Otol. Rhinol. Laryngol.* **79**, 358-370 (1970).
3. Paparella, M. M.: Middle ear effusions. Definition and terminology. *Ann. Otol. Rhinol. Laryngol.* **85**(Suppl. 25), 8-11 (1976).
4. Senturia, B. H.: Report of Ad Hoc committee on definition and classification of otitis media



- and otitis media with effusion. *Ann. Otol. Rhinol. Laryngol.* **89**(Suppl. 68), 3-4 (1980).
5. Curtis, A. W. and Clemis, J. D.: Middle ear effusions. Part II. Clinical aspects. *O. R. L. and Allergy Digest* **41**, 13-25 (1979).
  6. 古和田勲: 滲出性中耳炎の診断と治療. *小児医学* **12**, 764-789 (1979).
  7. Senturia, B. H., Gessert, C. F., Carr, C. D. and Braumann, E.: Studies concerned with tubotympanitis. *Ann. Otol. Rhinol. Laryngol.* **67**, 440-467 (1958).
  8. Liu, Y. S., Lim, D. J., Lang, R. W. and Birck, H. G.: Chronic middle ear effusions. Immunochemical and bacteriological investigations. *Arch. Otolaryngol.* **101**, 278-286 (1975).
  9. Liu, Y. S., Lim, D. J., Lang, R. W. and Birck, H. G.: Microorganisms in chronic otitis media with effusion. *Ann. Otol. Rhinol. Laryngol.* **85**(Suppl. 25), 245-249 (1976).
  10. Healy, G. B. and Teele, D. W.: The microbiology of chronic middle ear effusions in children. *Laryngoscope* **87**, 1472-1478 (1977).
  11. Palva, T., Raunio, V. and Nousianen, R.: Secretory otitis media. Protein and enzyme analyses. *Ann. Otol. Rhinol. Laryngol.* **83**(Suppl. 11), 35-43 (1974).
  12. Juhn, S. K. and Huff, J. S.: Biochemical characteristics of middle ear effusions. *Ann. Otol. Rhinol. Laryngol.* **85**(Suppl. 25), 110-117 (1976).
  13. Mogi, G., Honjo, S., Yoshida, T. and Maeda, S.: Middle ear effusions. Quantitative analysis of immunoglobulins. *Ann. Otol. Rhinol. Laryngol.* **82**, 196-202 (1973).
  14. Veltri, R. W. and Sprinkle, P. M.: Serous otitis media. Immunoglobulin and lysozyme levels in middle ear fluids and serum. *Ann. Otol. Rhinol. Laryngol.* **83**, 297-301 (1973).
  15. 河本和友: 滲出性中耳炎. *耳鼻* **20**(補冊 1), 241-296 (1974).
  16. Sipilä, P., Jokipii, A. M. M., Jokipii, L. and Karma, P.: Bacteria in the middle ear and ear canal of patients with secretory otitis media and with non-inflamed ears. *Acta Otolaryngol.* **92**, 123-130 (1981).
  17. 仁保正和: Blue ear drum と Black mastoid. *日耳鼻* **82**, 492-504 (1979).
  18. Bryan, M. P. and Bryan, W. T. K.: Cytologic and immunologic response revealed in middle ear effusions. *Ann. Otol. Rhinol. Laryngol.* **85**(Suppl. 25), 238-244 (1976).
  19. Palva, T., Holopainen, E. and Karma, P.: Protein and cellular pattern of glue ear secretions. *Ann. Otol. Rhinol. Laryngol.* **85**(Suppl. 25), 103-109 (1976).
  20. Palva, T. and Holopainen, E.: Secretory otitis media. Comparison of nasal and aural cytology. *Acta Otolaryngol.* **81**, 204-208 (1976).
  21. Juhn, S. K., Paparella, M. M., Goycoolea, M. V., Kim, C. S. and Giebink, S.: Pathogenesis of otitis media. *Ann. Otol. Rhinol. Laryngol.* **86**, 481-492 (1977).
  22. Palva, T., Häyry, P. and Ylikoski, J.: Lymphocyte morphology in mucoid middle ear effusions. *Ann. Otol. Rhinol. Laryngol.* **87**, 421-425 (1978).
  23. Lewis, D. M., Birck, H. G., Schram, J. L. and Lim, D. J.: Antibody activity in otitis media with effusion. *Ann. Otol. Rhinol. Laryngol.* **88**, 392-396 (1979).
  24. Lim, D. J., Lewis, D. M., Schram, J. L. and Birck, H. G.: Otitis media with effusion. Cytological and microbiological correlates. *Arch. Otolaryngol.* **105**, 404-412 (1979).
  25. Palva, T., Häyry, P. and Ylikoski, J.: Lymphocyte morphology in middle ear effusions. *Ann. Otol. Rhinol. Laryngol.* **89**(Suppl. 68), 143-146 (1980).
  26. Sadé, J.: Middle ear mucosa. *Arch. Otolaryngol.* **84**, 137-143 (1966).
  27. Lim, D. J. and Huss, B.: Human middle ear epithelium. An ultra-structural and cytochemical study. *Arch. Otolaryngol.* **89**, 835-849 (1969).
  28. Chanock, R., Roizman, B. and Myers, R.: Recovery from infants with respiratory illness of a virus related to chimpanzee coryza agent (CCA). I. Isolation, properties and characterization. *Am. J. Hyg.* **66**, 281-290 (1957).
  29. Bennett, C. R., Jr. and Hamre, D.: Growth and serological characteristics of Respiratory syncytial virus. *J. Infect. Dis.* **110**, 8-16 (1962).
  30. Henderson, F. W., Hu, Shin-Chin. and Collier, A. M.: Pathogenesis of Respiratory syncytial virus infection in ferret and fetal human tracheas in organ culture. *Am. Rev. Respir. Dis.* **118**, 29-37 (1978).

別刷請求先:

(〒060) 札幌市中央区南1条西16丁目

札幌医科大学耳鼻咽喉科学講座 山口 龍二